

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU, PRIRODOSLOVNO- MATEMATIČKI FAKULTET, BIOLOŠKI ODSJEK

Virusi bakterija u morima

Bacteria-infecting viruses in the sea

SEMINARSKI RAD

Maja Masla , preddiplomski studij biologije / undergraduate of biology

Mentor : prof. Damir Vilić

Zagreb, 2009.

Sadržaj

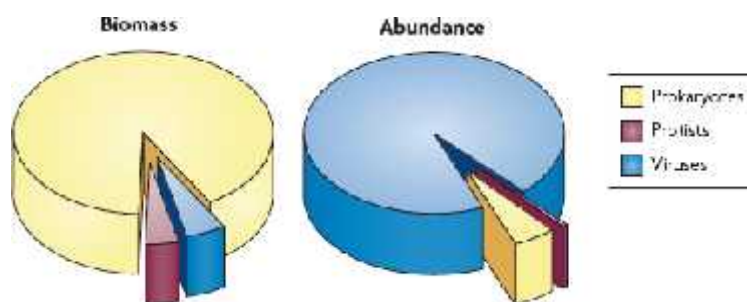
1. Uvod	2
2. Virusi prokariota (bakteriofagi)	4
2.1. Podjela i veličina	4
2.2. Životni ciklus	5
2.3. Abundacija u moru	6
3. Metode istraživanja	7
4. Uloga virusa u razvoju prokariota	9
4.1. Mortalitet i biogeokemijski ciklus	9
4.2. Horizontalni prijenos gena	10
5. Zaključak	12
6. Literatura	13
7. Sažetak	16
8. Abstract	16

1. Uvod

Mora i oceani prekrivaju preko 70 posto Zemljine površine, zahvaljuju i svojstvima vode uvelike utječu na svjetsku klimu te više od polovice proizvedenog kisika potječe iz mora. Zbog toga, a i mnogih drugih značajki, one bitno područje bioloških istraživanja.

U dvadesetom stoljeću su suvremene metode u biologiji omogućile uspješna istraživanja najsitnijih mikroorganizama i virusa. To je promijenilo stavove o hranidbenim lancima te ih pretvorilo u stajališta o hranidbenim mrežama. Otkivena je mikrobna hranidbena mreža (mikrobni krug). Mikroorganizmi sudjeluju u biogeokemijskim ciklusima u moru. Pokazalo se da su prokarioti iznimno važan segment hranidbenih i energetske mreže te da one čine čak 90 posto biomase u oceanima.

Morski virusi su prvi put otkriveni 1955. godine (Spencer 1955). Torrella i Morita su prvi zabilježili visoku razinu virusa u prirodnom okolišu ($>10^4 \text{ ml}^{-1}$) koristeći i transmisivni elektronski mikroskop, te su napomenuli da je i ta brojka mala, s obzirom da je vjerojatno velika količina virusa jednostavno prošla kroz pore filtra koji su oni koristili kako bi „ulovili“ viruse (Torrella i sur. 1979). Tek za desetak godina se pokazalo da brojnost virusa daleko premašuje broj prokariotskih organizama te da ih se treba uključiti u modele hranidbenih mreža te biogeokemijske cikluse. Današnje pretpostavke procjenjuju postotak brojnosti virusa oko 94 posto što ih čini najbrojnijim biološkim entitetima u moru, iako biomasom zauzimaju samo 5 posto (Slika 1).



Slika 1. Relativna biomasa i abundancija prokariota, protista i virusa u moru. Virusi

imaju najveću u abundanciju (94%), no zbog svoje male veličine zauzimaju samo 5% relativne biomase. Slika preuzeta (Suttle 2007).

2. Virusi prokariota (bakteriofagi)

Viruse ne možemo zvati organizmima zbog nedostatka značajki živog, kao što su metabolizam i stanična građa. Unatoč tome, oni nisu ni sasvim mrtva tvar, jer ipak sadrže genetički materijal, koji se umnaža i time nastaju nove jedinice. Stoga ih nazivamo biološkim entitetima. Oni su građeni od nukleinske kiseline (jednostruke ili dvostruke uzvojnice; RNA ili DNA, osim Mimi virusa koji sadrži obje) te proteinske kapsule. Kod virusa koji se prenose u suhim uvjetima može postojati još i lipidni omotač. Također, neki se virusi mogu i kristalizirati te tako preživjeti nepovoljne uvjete. Neki znanstvenici se zalažu da se u podjeli živog svijeta stvori još jedna domena *Akamara*, za acelularne biološke entitete, koje posjeduju genom u obliku nukleinske kiseline (Hurst 2000).

Virusi koji inficiraju bakterije, otkriveni su dva puta, Twort 1915.g. te d'Harelle 1917.g. D'Harelle ih prvi puta nazvao bakteriofagima, što bi doslovno značilo „ždera i bakterija“. Sredinom dvadesetog stoljeća koristili su se za istraživanje DNA kao nasljedne tvari te kao terapija, kada se još nije razvila farmacija antibiotika.

2.1. Podjela i veličina

Bakterije su prokariotski organizmi i stoga se virusi koji ih inficiraju nazivaju virusima prokariota, odnosno, bakteriofagima. Prokarioti su stanična bića koja imaju staničnu membranu i staničnu stijenku, ali im nedostaju stanični organeli poput jezgre, mitohondrija i ostalih. U prokariote spadaju domene *Bacteria* i *Archea*. Poznati su različiti oblici bakteriofaga, odnosno, faga. Najčešći je tipičan oblik, s glavom, konektorom i repom, koji mogu imati dodatke, kao što su privjesci na glavi, ogrlica te filament i šiljci na repu. 96 posto izoliranih faga imaju rep te stoga spadaju u skupinu *Caudovirales* (Ackermann 1996). Također, nađeni su i filamentni, kubični te razni drugi oblici faga. Izoliran je samo jedan RNA fag koji je ujedno imao i lipidni omotač (Proctor 1997).

Caudovirales je skupina procijenjene starosti na 3.5 – 3.7 milijuna godina što je čini starijom od podjele živog svijeta na tri domene *Archea*, *Bacteria* i *Eucaria* (Ackermann

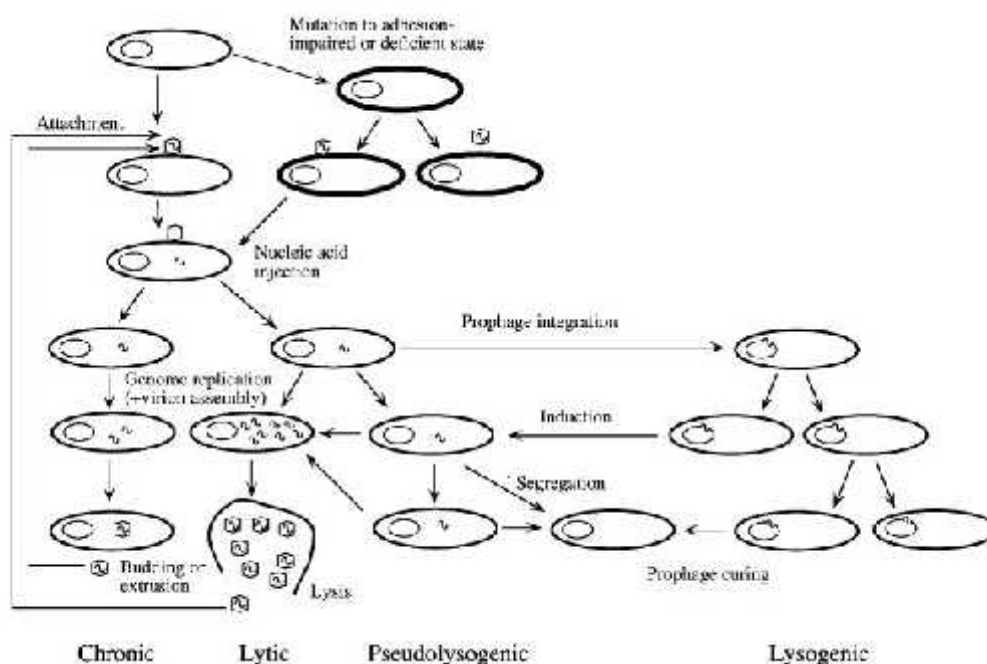
1999.). Pripadnici ove skupine kao geneti ki materijal imaju dvostruku uzvojnica DNA (dsDNA) te se dijeli na tri obitelji s obzirom na rep: dugi fleksibilni rep (*Siphoviridae*), kontraktilni rep (*Myoviridae*) te jako kratak rep (*Podoviridae*). Ve inu izoliranih faga u morima ine *Myoviridae* (Waterbury i sur. 1993).

Veli ina faga varira od vrste do vrste, no u morima je naj eš a veli ina glave faga izme u 55 i 64 nm u dijametru. Do sada najve i zabilježeni je u promjeru veli ine 750 nm (Gowing 1993).

2.2. Životni ciklus

Pri svakoj infekciji postoje tipi ni koraci: adsorpcija, odvajanje nukleinske kiseline od proteinske kapsule, ekspresija i replikacija nukleinske kiseline, sastavljanje viriona (funkcionalne virusne estice), otpuštanje i transmisija. Sama adsorpcija se odvija u dva koraka. Prvi, po etni, kontakt je reverzibilan te još postoji mogućnost da ne do e do infekcije. U drugom koraku adsorpcije, koji je ireverzibilan, dolazi do povezivanja virusa repom za površinu prokariota. Zatim, posebni enzimi u kapsidi ili repu u ine stani nu membranu penetrabilnom te se može ubaciti nukleinska kiselina u unutrašnjost stanice, dok proteinska kapsula pritom ostaje van stanice. Nakon injekcije, geneti ki materijal se ili integrira u genom domaćina ili ostaje u citoplazmi. Kada se nalazi slobodan u citoplazmi može se odviti ekspresija gena, replikacija genoma te morfogeneza (pakiranje virusnog genoma u proteinske kapsule). Period od adsorpcije virusa do lize stanice naziva se latentni period. Broj viriona koji se ispusti iz jedne inficirane stanice naziva se veli ina otpusta (eng. „burst size“). Kod faga s repom, liza stanice je dvostruka. Holin razara stani nu membranu, dok endolizin napada peptidoglikane stani ne stijenke (Ackerman 1999).

Postoji više životnih ciklusa kod faga: liti ki, lizogeni, pseudolizogeni i kroni ni (Slika 2) (Ackerman 1987). U liti kom ciklusu se, nakon injektiranja geneti kog materijala, taj materijal odmah eksprimira te nastaju novi virioni, nakon ega slijedi liza stanica. Lizogeni ciklus ima period latencije, odnosno, genom virusa se integrira u genom domaćina (tada se naziva profag) te se može s njim prenositi na stanice k eri, dok se ne pokrene liti ki ciklus. Kroni na infekcija je sli na liti koj samo što ne dolazi do lize stanice, ve se virioni kontantno ispuštaju iz stanice, pupanjem ili ekstruzijom. Pseudolizogeni ciklus je zajedni ki naziv za sve stadije na prijelazima izme u ostalih ciklusa.



Slika 2. Životni ciklusi faga. Slika preuzeta (Wienbauer 2004).

2.3. Abundacija u moru

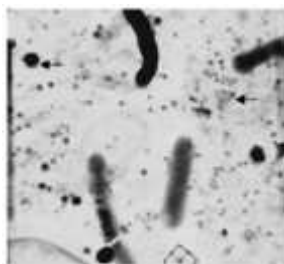
Abundacija virusa u okolišu može varirati izmeđ u 10^4 i 10^8 po mililitru vode (Wommack i sur. 2000). U **pelagijalu** broj virusa po mililitru morske vode raste s obzirom na produktivnost okoliša, stoga ne ude dobiveni rezultati brojnosti u dubokom moru ($10^4 - 10^5$ ml⁻¹), s obzirom na obalne vode ($10^6 - 10^7$ ml⁻¹) (Paul 2000). U estuarijima je mogu e zabilježiti vrijednost od 10^8 ml⁻¹, a najve a abundacija, izuzevši sedimente, je na ena u cijanobakterijskim naslagama iznad dna (9.6×10^8 ml⁻¹) (Hennes i sur. 1995). Tako er, pokazalo se da je u uvjetima anoksije pove ana koli ina virusa (Weinbauer i sur. 1998). Postoje radovi koji su pratili dnevnu, mjese nu i godišnju abundaciju te se time pokazalo da populacije virusa imaju iznimnu dinamiku te oscilacije sli ne odnosu predator – plijen (Winbauer i sur. 1995). Nalazi iz **morskih sedimenata** pokazuju da se tu nalazi ve a koli ina virusa nego u pelagijalu, oko $0.03 - 11.71 \times 10^8$ g⁻¹ (Danovaro i sur. 2002). Tu nalazimo i viruse ijih doma ina nema u sedimentu, sugeriraju i da se ovdje radi i o rezervoaru faga, iji su potencijalni doma ini u pelagijalu. U **morskom ledu** nalazimo više virusa nego u okolnoj vodi ($9.0 \times 10^6 - 1.3 \times 10^8$ ml⁻¹) (Maranger i sur. 2004), kao i u esticama **morskog snijega** ($5.6 - 8.7 \times 10^{10}$ ml⁻¹) (Peduzzi i sur. 1993.). Ukupna brojnost virusa u oceanima procijenjuje se na oko 10^{30} (Wilhelm i sur. 2000).

3. Metode istraživanja

Pet metoda se koristi u istraživanju virusa u morima: metodom plakova (PAs), metodom najvjerojatnijeg broja (MPNs), transmisijским elektronskim mikroskopom (TEM), epifluorescentnim mikroskopom (EfM) i prototom citometrijom (FC).

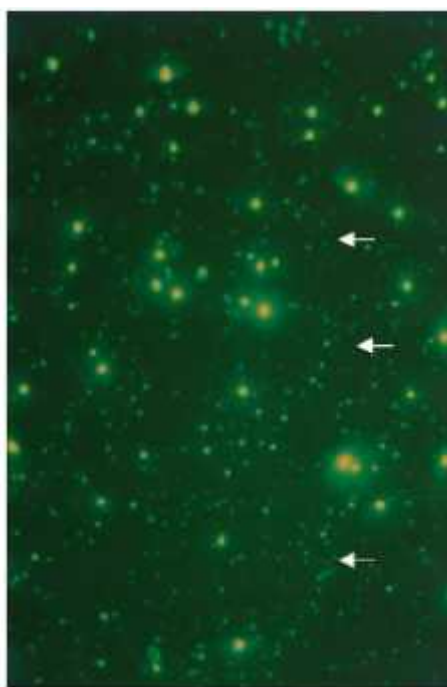
Prve dvije metode, **metoda plakova (PAs)** i **metoda najvjerojatnijeg broja (MPNs)**, koriste se prilikom kvantifikacije abundancije virusa, uzrokuju i lizu određenog domaćina, uzgojenog na podlozi. No, poznato je da se većina mikroorganizama (oko 99 posto) ne može uzgojiti na hranjivoj podlozi (Great – Plate – Count - Anomaly, GPCA). PAs se koristi za prokariote koji se mogu uzgojiti na agaru, pa se pritom broje plakovi, odnosno, područja gdje nedostaje domaćin, kao područja gdje je inficirao barem jedan virus. MPNs je metoda za prokariote koji se ne mogu uzgojiti na vrstom agaru, već u tekućoj podlozi. Tada se motri pri kojoj minimalnoj koncentraciji (titru) virusa se razbistri tekućina, te se to uzima kao titar pri kojem se nalazi barem jedan virus u otopini. Obje metode jedine daju direktnu sliku broja virusa, ali njihovi nedostaci su nemogućnost uzgoja većine domaćina i nedostatak informacija o ukupnoj abundanciji svih virusa iz uzorka, a ne samo određenog virusa koji inficira domaćin kojeg smo uzgojili.

Transmisijски elektronski mikroskop (TEM) je jedina metoda koja pruža informacije i o abundanciji i o morfologiji virusa u uzorku (Slika 3). Uzorak se mora pripremiti za TEM, tako da se virusi koncentriraju iz uzorka, stave se na rešetku te se obogate nekim teškim metalom kao što je uranij koji se nalazi u uranij - acetatu, kao bi postali vidljivi. Pri tom postupku se doduše mogu učiniti brojne greške, a i sama tehnika pripreme može promijeniti rezultate. Većinom je ova metoda zamijenjena EfM-om, osim ako je potrebna morfologija virusa.



Slika 3. **Slika virusa pod transmisijским elektronskim mikroskopom.**
Strelicama su istaknuti virusi. Slika preuzeta (Weinbauer 2004).

Epifluorescentni mikroskop (EfM) se sada naj češće rabi u procjeni abundancije virusa u nekom uzorku (Slika 4). Uzorak se mora koncentrirati na membranskom filtru te se sve nukleinske kiseline oboje nekom fluorescencijskom bojom. Na početku ove tehnike koristila se boja DAPI (4', 6-diamidino-2-fenilindol), no sada postoje nove generacije sjajnijih boja, kao što su YO-PRO11 i SYBR Green. Najnovija od navedenih metoda je **protocitometrija (FC)**. Na brz način prebrojava uzorak također na osnovu fluorescencije. Jako je pouzdana metoda koja se sve više koristi. Nedostaci posljednje dvije metode su nemogućnost ovih boja da obojaju jednostruku uzvojnicu DNA i RNA, tj. bojaju samo dvostruku uzvojnicu DNA. Također svi virusi koji su eventualno prisutni za neke vrste čestice, ovim se metodama neće detektirati.



Slika 4. Slika virusa pod epifluorescentnim mikroskopom.

Strelicama su istaknuti virusi. Slika preuzeta (Weinbauer 2004.).

Unatoč nedostacima ovih metoda, istraživanja te same metode su jako uznapređovali unazad 15 godina.

Metagenomika je nova grana znanosti koja se pojavila napretkom molekularne biologije. Zasniva se na uzimanju uzoraka iz prirode, proširivanju svih nukleinskih kiselina iz njih, njihovim umnažanjem te spremanjem u tzv. knjižnice. Ovo omogućava

identificiranje velike količine virusa koje zbog GPCA ne možemo uzgojiti te nam daje stvarni uvid u raznolikost, raširenost i abundanciju virusa u svijetu. U ovoj su metodi virusi u prednosti nad ostalim biološkim metodama zbog svog malog genoma. Ovim pristupom dobivamo brojne sekvence virusa te podatke koje sve više otkrivaju sliku o virusima bakterija u moru.

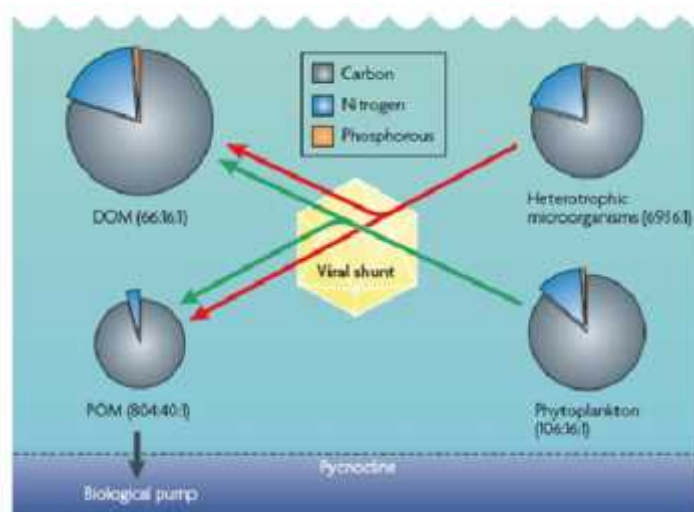
4. Uloga virusa u razvoju prokariota

Virusi utječu na razvoj svih članova hranidbene mreže. Utjecaj bakteriofaga može biti direktan ili indirektan na mikrobnju zajednicu, što nadalje utječe na cijeli ekosustav.

4.1. *Mortalitet i biogeokemijski ciklus*

Najoznačiji utjecaj virusa jest povećani mortalitet domaćina. Pošto prokarioti čine veliku većinu biomase u moru, liziranje stanica ima velik utjecaj na biogeokemijske cikluse. Procjenjuje se da virusi dnevno liziraju 20 – 40 posto prokariota (Wommack i sur. 2000), što uključuje i cijanobakterije koje su zaslužne za 20 – 80 posto fiksacije ugljika (Liu i sur. 1997). Zajedno s potrošačima, kao što su cilijski i heterotrofni nanoflagelati, virusi kontroliraju zajednicu prokariota. Uloga faga raste ako iz nekog razloga (prevelik salinitet ili anoksija) nedostaju potrošači (Guixa-Boixareu i sur. 1996, Fenchel i sur. 1990). Također veći utjecaj imaju u oligotrofnim morima, nego u eutrofnim morima (Murray i sur. 1994). Liza bakterija utječe na cijelu hranidbenu mrežu, jer se oslobađaju otopljeni organski tvar (eng. dissolved organic matter - DOM) i suspendirana organska tvar (eng. particulate organic matter – POM) (Slika 5). Nutrijenti su dostupniji fitoplanktonu, što potpomaže vezanje ugljikovog dioksida iz atmosfere prilikom procesa fotosinteze, i bakterijama, povećavajući njihov broj. Zato je uloga virusa značajnija u oligotrofnim morima, posebice zbog oslobađanja fosfora (Noble i sur. 1999). Također, virusi potpomažu biološku pumpu, zbog ubrzanog tonjenja ugljika u obliku POM-a. Virus koji liziraju bakterijske stanice mogu utjecati i na prozirnost mora. Lizom se oslobađaju različiti enzimi zbog čega te čestice postaju ljepljivije te se stvara morski snijeg, na koji se dodatno lijepe bakterije, i sve skupa brže tone (Proctor i sur. 1991). Sami virusi sadrže 5 posto ugljika u moru, dok 6-26 posto ugljika iz bakterija virusnom prenosnicom konvertiraju u DOC svaki dan (Wilhelm i sur. 1991). Lizom stanica, također, katkad

oslobađaju dimetil – sulfid (DMS), plin koji ima jak utjecaj na „efekt staklenika“, koji uvelike utječe na atmosferu (Bratbak i sur. 1995, Hill i sur. 1998).



Slika 5. **Virusna premosnica.** Omjeri prikazuju količinu ugljika, dušika i fosfora. Slika preuzeta (Suttle 2007)

Uočeno je da virusi ne inficiraju sve skupine prokariota podjednako, već da u većini slučajeva postoji pravilnost pod nazivom „killing the winner“ (Thingstad 1997, Thingstad i sur. 2000). Imaju tendenciju više inficirati dominantnu skupinu prokariota koja se brzo razmnožava te ima veliku abundanciju. Tako u biti sprečava potpunu dominaciju neke skupine i omogućava veću bioraznolikost prokariota.

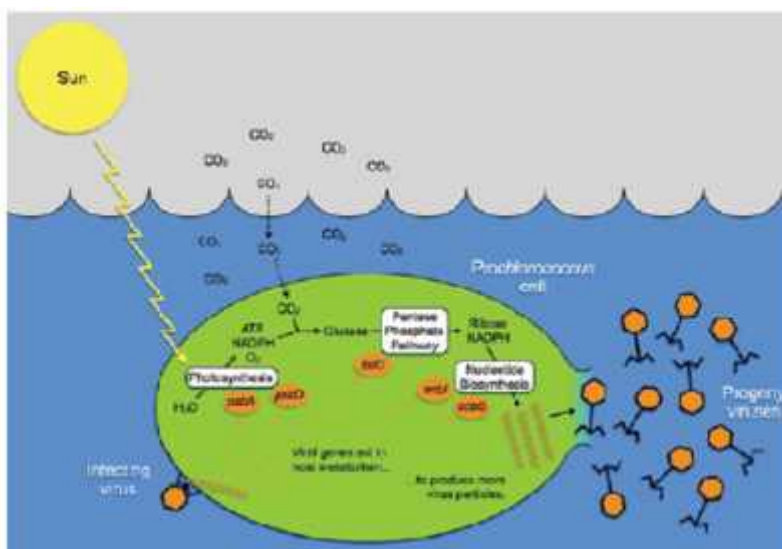
4.2. Horizontalni prijenos gena

Ne toliko očiti, ali veoma značajan utjecaj virusa bakterija, jest horizontalni prijenos gena. Kao jedan od načina prijenosa gena između prokariota, poznata je transdukcija. Vjeruje se, da nakon što se genom virusa uklopi u genom domaćina, naknadnim izrezivanjem, znači do i do greške i pakiranja nekog gena domaćina u virus, zajedno s njegovim genomom. Ponovnom infekcijom, virus prenosi taj gen u novu bakteriju, gdje se može eksprimirati taj gen (Ackerman i sur. 1987).

Istraživanja su pokazala da se to dešava već i no što se do sada vjerovalo te da postoje faktori koji znaju još povećati vjerojatnost (Chiura i sur. 1994, Chiura 1997.). Najčešće je riječ o većoj koncentraciji domaćina na jednom mjestu, kao što je morski snijeg. Poznato je da fagi mogu imati različit utjecaj na domaćina zahvaljujući genima koji nose, kao što su produkcija toksina i rezistencija na antibiotike (Waldor i sur. 1996). Jedan od najzanimljivijih

primjera je cijanofag koji nosi gen za fotosistem II te tako potiče cijanobakteriju na povećanu stopu fotosinteze (Zeidner i sur. 2005, Sullivan i sur. 2006). Time se fiksira povećana količina ugljikovog dioksida iz atmosfere. Također, mogu nositi gene i za ostale metaboličke puteve, kao što su put pentozna fosfata te biosinteza nukleotida. Svim tim procesima oni povećavaju metabolizam domaćina u svrhu stvaranja novih virusnih čestica (Slika 6). Samim raspadom stanice domaćina, u okoliš se oslobađa slobodan genetički materijal, u obliku domaćinovog DNA i plazmida, koji se također mogu upotrijebiti u okolišu.

Mogućnost faga da sudjeluju u horizontalnom prijenosu gena utječe na genetičku raznolikost prokariota, njihovu potencijalnu otpornost te u konačnici na samu evoluciju bakterija.



Slika 6. **Mogući utjecaji gena iz cijanofaga.** Slika preuzeta (Beitbart i sur. 2007)

5. Zaključak

Virusi su oduvijek pobuđivali znatiželju znanstvenika, zbog svoje jedostavnosti i male veličine. Znanje o bakteriofaga dugo nije bio poznat. Tek nakon otkrića njihove iznimno visoke abundancije i procesa u mikrobiološkom krugu, spoznalo se da bitno reguliraju procese u ekološkom sustavu.

Metode kojima se istražuje njihova uloga znatno su napredovale u zadnjih 15 godina, no nužan je njihov daljnji razvoj. Metagenomika je grana biologije koja će odgovoriti na velik broj pitanja, uzimajući uzorke direktno iz okoliša.

Sve više se uvjerenost da su ove male biološke jedinice iznimno važne u ekosustavu mora, te da se nikako ne smiju podcijeniti ili izostaviti iz istraživačkih modela. Utječu na sastav mikrobiološke zajednice, biogeokemijske cikluse i biološku pumpu.

Nužna su još brojna istraživanja prokariotskih virusa na uzorcima iz okoliša kako bi se mogla upotpuniti slika funkcioniranja života u moru.

6. Literatura

1. Ackermann, H.-W. (1999) Tailed bacteriophages: the order Caudovirales. *Adv. Virus Res.* 51, 135–201.
2. Ackermann, H.-W. (1996) Frequency of morphological phage descriptions in 1995. *Arch. Virol* 141, 209–218.
3. Ackermann, H.-W., DuBow, M.S. (1987) Viruses of Prokaryotes. In: *General Properties of Bacteriophages*, Vol. I. CRC Press, Boca Raton. 202 p.
4. Bratbak, G., Levasseur, M., Michaud, S., Cantin, G., Fernandez, E., Heimdal, B.R., Heldal, M. (1995) Viral activity in relation to *Emiliana huxleyi* blooms: a mechanism of DMSP release? *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 128, 133–142.
5. Breitbart, M., L.R. Thompson, C.A. Suttle, M.B. Sullivan (2007.) Exploring the vast diversity of marine viruses; *Oceanography* 20
6. Chiura, H.X. (1997) Generalized gene transfer by virus-like particles from marine bacteria. *Aquat. Microb. Ecol.* 13, 75–83.
7. Chiura, H., Tagaki, J. (1994) Phage-like particles production and gene transfer by marine bacteria. *Bull. Jpn. Soc. Microb. Ecol.* 9, 75–90.
8. Danovaro, R., Manini, E., Dell'Anno, A. (2002) Higher abundance of bacteria than of viruses in deep Mediterranean sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 1468–1472.
9. Danovaro, R., Dell'anno, A., Trucco, A., Serresi, M., Vanucci, S. (2001) Determination of virus abundance in marine sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 1384–1387
10. Duckworth, D. (1987) History and basic properties of bacterial viruses. In: *Phage Ecology* (Goyal, S.M., Gerba, C.P. i Bitton, G., Eds.), pp. 1–44. John Wiley & Sons, New York.
11. Fenchel, T., Kristensen, L.D., Rasmussen, L. (1990) Water column anoxia: vertical zonation of planktonic protozoa. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 62, 1–10.
12. Gowing, M.M. (1993) Large virus-like particles from vacuoles of Phaeodarian radiolarians and from other marine samples. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 101, 33–43.
13. Guixa-Boixareu, N., Calderon-Paz, J.I., Heldal, M., Bratbak, G., Pedros-Alio, C. (1996) Viral lysis and bacterivory as prokaryotic loss factors along a salinity gradient. *Aquat. Microb. Ecol.* 11, 215–227.
14. Helton, R. R., Liu, L., Wommack, K. E. (2006) Assessment of factors influencing direct enumeration of viruses within estuarine sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 4767–4774
15. Hennes, K.P., Suttle, C.A. (1995) Direct counts of viruses in natural waters and laboratory cultures by epifluorescence microscopy. *Limnol. Oceanogr.* 40, 1050–1055.
16. Hill, R.W., White, B.A., Cottrell, M.T., Dacey, J.W.H. (1998) Virus-mediated total release of dimethylsulfoniopropionate from marine phytoplankton: a potential climate process. *Aquat. Microb. Ecol.* 14, 1–6.
17. Hurst, C. (2000) An introduction to viral taxonomy and the proposal of Akamara, a potential domain for the genomic acellular agents. In: *Viral Ecology* (Hurst, C., Ed.), pp. 41–62. Academic Press, San Diego

18. Liu, H., Nolla, H.A., Campbell, L. (1997) *Prochlorococcus* growth rate and contribution to primary production in the equatorial and subtropical North Pacific Ocean. *Aquat. Microb. Ecol.* 12, 39–47.
19. Maranger, R., Bird, D.F., Juniper, S.K. (1994) Viral and bacterial dynamics in Arctic sea ice during the spring algal bloom near Resolute, N.W.T., Canada. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 111, 121–127.
20. Murray, A.G., Eldridge, P.M. (1994) Marine viral ecology: incorporation of bacteriophage into the microbial planktonic food web paradigm. *J. Plankton Res.* 16, 627–641.
21. Noble, R., Fuhrman, J. (1999) Breakdown and microbial uptake of marine viruses and other lysis products. *Aquat. Microb. Ecol.* 20, 1–11.
22. Paul, J., Jiang, S. (2001) Lysogeny and transduction. In: *Methods in Microbiology* (Paul, J., Ed.), Vol. 30, pp. 105–125. Academic Press, San Diego.
23. Paul, J. (2000) Ecology of bacteriophages in nature. In: *Viral Ecology* (Hurst, C., Ed.), pp. 211–246. Academic Press, San Diego.
24. Peduzzi, P., Weinbauer, M.G. (1993) Effect of concentrating the virus-rich 2–200 nm size fraction of seawater on the formation of algal flocs (marine snow). *Limnol. Oceanogr.* 38, 1562–1565.
25. Proctor, L. (1997) Advances in the study of marine viruses. *Microsc. Res. Tech.* 37, 136–161.
26. Proctor, L.M., Fuhrman, J.A. (1991) Roles of viral infection in organic particle flux. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 69, 133–142.
27. Spencer, R. (1955.) A marine bacteriophage. *Nature* 175:690.
28. Sullivan, M.B., Lindell, D., Lee, J.A., Thompson, L.R., Bielawski, J.P., Chisholm, S.W. (2006.). Prevalence and evolution of core photosystem II genes in marine cyanobacterial viruses and their hosts. *PLoS Biology* 4:e234.
29. Suttle, C. A. (2007.) Marine viruses – major players in the global ecosystem; *Nature reviews* 5
30. Thingstad, T. (2000) Elements of a theory for the mechanisms controlling abundance, diversity, and biogeochemical role of lytic bacterial viruses in aquatic systems. *Limnol. Oceanogr.* 45, 1320–1328.
31. Thingstad, T.F., Lignell, R. (1997) Theoretical models for the control of bacterial growth rate, abundance, diversity and carbon demand. *Aquat. Microb. Ecol.* 13, 19–27.
32. Torrella, F., Morita, R.Y. (1979) Evidence by electron micrographs for a high incidence of bacteriophage particles in the waters of Yaquina Bay, Oregon: ecological and taxonomical implications. *Appl. Environ. Microbiol.* 37, 774–778.
33. Waldor, M.K., Mekalanos, J.J. (1996) Lysogenic conversion by a filamentous phage encoding cholera toxin. *Science* 272, 1910–1914.
34. Waterbury, J.B., Valois, F.W. (1993) Resistance to cooccurring phages enables marine *Synechococcus* communities to coexist with cyanophages abundant in seawater. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 3393–3399.
35. Weinbauer, M.G. (2004) Ecology of prokaryotic viruses. *FEMS Microbiology Reviews* 28:127–181.
36. Weinbauer, M.G., Hofle, M.G. (1998) Significance of viral lysis and flagellate grazing as factors controlling bacterioplankton production in a eutrophic lake. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 431–438.
37. Weinbauer, M.G., Fuks, D., Puskaric, S., Peduzzi, P. (1995) Diel, seasonal and depth-related variability of viruses and dissolved DNA in the northern Adriatic Sea. *Microb. Ecol.* 30, 25–41.

38. Wilhelm, S., Suttle, C. (2000) Viruses as regulators of nutrient cycles in aquatic environments. In: *Microbial Biosystems* (Bell, C., Brylinsky, M. i Johnson-Green, P., Eds.), pp. 551–556. Atlantic Canada Society for Microbial Ecology, Halifax.
39. Wilhelm, S.W., Suttle, C.A. (1999) Viruses and nutrient cycles in the Sea. *Bioscience* 49, 781–788.
40. Wommack, K.E., Colwell, R.R. (2000) Virioplankton: viruses in aquatic ecosystems. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64, 69–114.
41. Zeidner, G., Bielawski, J.P., Shmoish, M., Scanlan, D.J., Sabehi, G., Beja, O. (2005) Potential photosynthesis gene recombination between *Prochlorococcus* and *Synechococcus* via viral intermediates. *Environmental Microbiology* 7:1,505–1,513.

7. Sažetak

Virusi su najbrojnije biološke entitete na Zemlji. No, tek nedavno je otkrivena njihova visoka abundancija u oceanima, procjenjuje se na oko 10 milijuna virusa po mililitru. Ta neočekivana brojka pobudila je zanimanje velikog broja znanstvenika za ulogu tih virusa u ekosustavu Zemlje. Zbog njihove male veličine, tek se usavršavaju metode istraživanja. Dokazano, većina tih virusa napada bakterija, tj. prokariotski su virusi. Osim što utječe na mortalitet bakterija (dnevno liziraju 20- 40% prokariota), pokazalo se da imaju i značajnu ulogu u održavanju ravnoteže bioraznolikosti bakterija, horizontalnom prijenosu gena te u biogeokemijskim procesima. Proučavanje prokariotskih virusa daje nam još bolji uvid u procese koji se odvijaju u oceanima, koji u konačnici utječu na cijelu Zemlju.

8. Abstract

Viruses are the most abundant biological entities on Earth. However, their high abundance in the oceans was discovered only recently, estimated at approximately 10 million of viruses per milliliter. That unexpected number made many scientists interested in the role of these viruses in the Earth's ecosystem. Due to their small size, methods for researching them are in need of continual improvement. It is established that most of these viruses attack bacteria, that is, they are prokaryotic viruses. Apart from influencing the mortality of the bacteria (lysing 20-40% of them daily) it was shown that they play a significant role in maintaining the bacteria's biodiversity balance, their horizontal gene transfer, and in affecting biogeochemical circles. Researching prokaryotic viruses gives us an even better view on the processes taking place in the oceans, which in turn impact the entire Earth.